

На правах рукописи

**ЖИЛЕНКОВА
Юлия Исмаиловна**

**ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ РАЗЛИЧНЫХ
ФОРМ ГЕМОГЛОБИНОПАТИЙ**

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

Козлов Антон Владимирович – доктор медицинских наук профессор

Бессмельцев Станислав Семенович – доктор медицинских наук профессор

Официальные оппоненты:

Зарицкий Андрей Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор, директор Института гематологии ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Карпищенко Анатолий Иванович – Заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «_30_» ноября 2017 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте www.arcem.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Гемоглобинопатии (ГП) – одна из наиболее распространенных наследственных патологий во всём мире, при которой происходят нарушения синтеза гемоглобина [Modell V., Darlison M., 2008; Weatherall D.J., 2010]. По самым скромным подсчетам, порядка 7% населения Земного шара являются носителями глобиновых аномалий, и ежегодно в мире рождается до 300 тысяч детей с вариантами ГП [Bulletin of the World Health Organization, 2008].

Долгое время основными регионами распространения ГП являлись страны тропической Африки, Ближнего и Среднего Востока, бассейна Средиземного моря и Азии [Angastiniotis M., Modell V., 1998]. На территории бывшего СССР ГП встречаются преимущественно в Азербайджане (частота носительства β -талассемии в среднем составляет 8% популяции, а Hb S – порядка 3%), несколько меньше – в Грузии, Армении, республиках Средней Азии [Рустамов Р.Ш., Гаيبов Н.Т., Ахмедова Н.М., 1981; Румянцева А.Г., Токарев Ю.Н., Сметанина Н.С., 2015]. В некоторых районах Таджикистана и Узбекистана до 15% населения являются носителями гена талассемии [Bakhranov S.M., Farmankulov Kh.K., 1985]. В Российской Федерации ГП обнаружены в Дагестане и Поволжье, преимущественно среди татар и башкир [Токарев Ю.Н., 1998].

Глобальные миграционные процессы, происходящие в последние десятилетия, привели к распространению глобиновых аномалий по всему миру, в том числе в регионы, для которых они ранее не были характерны – в Северную (США, Канада) и Южную Америку, Австралию, страны Западной Европы [Modell V., Darlison M., Birgens H. et al., 2007; Angastiniotis M., Corrons J.L., Soteriades E., 2013; Aguilar Martinez P., Angastiniotis M., Eleftheriou A. et al., 2014]. В настоящее время эксперты ВОЗ признали ГП глобальной проблемой общественного здравоохранения [Williams T.N., Weatherall D., 2012].

ГП представляют собой клинически гетерогенную группу заболеваний, проявляющихся от бессимптомного носительства до анемий различной степени тяжести – от легких форм до тяжелых гемолитических анемий, требующих пожизненного лечения. Определенные трудности клиницисты испытывают при диагностике форм, сопровождающихся умеренной микроцитарной гипохромной анемией, протекающей сходно с железодефицитной анемией (ЖДА) [Weatherall D.J., 2012; Musallam K.M., Rivella S., Vichinsky E., 2013]. Выявление таких пациентов представляется важной задачей с точки зрения профилактики рождения детей, гомозиготных по аномальным глобиновым генам [Old J., Galanello R., Eleftheriou A., 2013; Lavee O., Kidson-Gerber G., 2015]. Развитие осложнений, связанных как с наличием ГП, так и с ее лечением, становится значимой проблемой здравоохранения во многих странах [Forni G.L., Puntoni M., Boeri E. et al., 2012; Knight-Madden J., Romana M., Villaescusa R. et al., 2016].

В России за последние годы резко возросла доля пациентов с ГП, особенно в крупных городах, таких как Москва и Санкт-Петербург, принимающих значительные миграционные потоки [Лохматова М.Е., Сметанина Н.С.,

Финогенова Н.А., 2009; Лохматова М.Е., 2011]. В Санкт-Петербурге врачами Консультативно-диагностического центра для детей (КДЦД) были проанализированы причины обращения к гематологам детей с гипохромными анемиями в период 2010 – 2015 годов. Оказалось, что наряду с железодефицитной анемией (ЖДА) и анемией хронических заболеваний (АХЗ), значительная часть детей страдала малыми формами талассемии, причем их доля в структуре гипохромных анемий увеличилась с 7,4% в 2010 г. до 13,5% в 2015 г. [Пшеничная К.И., 2015].

Степень разработанности темы

В ряде стран для решения данной проблемы предложены национальные программы, основанные на лабораторном обследовании пациентов групп риска с целью обнаружения носителей глобиновых аномалий, включающие различные виды электрофореза, хроматографии, масс-спектрометрии [Cappellini M.D., Cohen A., Eleftheriou A. et al., 2008; Weatherall D.J., 2010]. Однако эти программы ориентированы, в первую очередь, на определенный регион и учитывают этнический состав и распространенность в нем тех или иных форм ГП. До настоящего времени продолжается дискуссия об эффективности различных скрининговых подходов и их финансовой составляющей [Cousens N.E., Gaffl C.L., Metcalfe S.A., 2010; Giordano P.C., 2013]. А также продолжается поиск оптимальных маркеров для выявления ГП [Hashemieh M., Timori N.H., Tabrizi N.M. et al., 2015; Rivella S., 2015; Rund D., 2016].

В России длительное время проблеме ГП не уделяли должного внимания [Комарова И.Н., 2009]. Отдельные публикации касались, в основном, клинических аспектов ведения таких пациентов, а также распространенности различных форм ГП в ряде регионов РФ, в частности, в Москве и Дагестане [Байтаева Д.А., 2012; Кунаков Ю.И., Тыренко В.В., Галомзик Н.С., 2013]. До сих пор не разработан общий подход к диагностике ГП, и отсутствуют программы скрининга, что затрудняет раннюю диагностику и лечение этой категории пациентов.

Увеличение доли пациентов с ГП, недостаточное знакомство практикующих врачей с данной проблемой, сложности, возникающие при дифференциальной диагностике гипохромных анемий, а также отсутствие руководств по выявлению ГП, указывают на необходимость изучения данной проблемы с целью разработки новых лабораторных подходов к раннему выявлению пациентов с глобиновыми аномалиями.

Цель исследования

Разработать и научно обосновать алгоритм ранней диагностики различных форм гемоглобинопатий с учетом их клинико-лабораторных особенностей для проведения направленного поиска носителей глобиновых аномалий.

Задачи исследования

1. Оценить информативность основных лабораторных маркеров для обнаружения гемоглинопатий с минимальными клиничко-гематологическими проявлениями заболевания.
2. Определить комплекс диагностически значимых лабораторных маркеров для выявления носителей глобиновых аномалий.
3. Выявить особенности диагностики различных форм гемоглинопатий с использованием вариантов электрофореза.
4. Разработать алгоритм ранней диагностики гемоглинопатий с использованием набора современных лабораторных маркеров и с учетом клиничко-гематологических особенностей гемоглинопатий.

Научная новизна и теоретическая значимость работы

Впервые проведена оценка чувствительности и специфичности комплекса основных лабораторных маркеров с учетом клиничко-лабораторных особенностей различных форм гемоглинопатий.

Определены пороговые значения расчетных эритроцитарных индексов для выявления пациентов с гемоглинопатиями в смешанной популяции, что позволило повысить их диагностическую ценность для целей скрининга.

Выявлены особенности диагностики различных форм гемоглинопатий с использованием вариантов электрофореза.

Впервые в Санкт-Петербурге определен спектр мутаций β -глобинового гена у пациентов с гемоглинопатиями, что позволило дополнить данные по распространенности генетических вариантов гемоглинопатий.

Практическая значимость работы

Предложен алгоритм диагностики гемоглинопатий с использованием набора современных лабораторных маркеров, позволяющий верифицировать вариант заболевания и выбрать оптимальную терапию.

Оптимизирован лабораторный подход к дифференциальной диагностике микроцитарных анемий, связанных с железодефицитной анемией и гемоглинопатиями.

Установлено, что расчетные эритроцитарные индексы обладают высокой диагностической ценностью для скрининга на гемоглинопатии с отсутствием или минимальными клиничко-гематологическими проявлениями.

Оценены возможности различных вариантов электрофореза для подтверждения гемоглинопатии.

Методология и методы исследования

В основу положено проспективное когортное наблюдение. Для достижения поставленной цели научной работы был проведен анализ литературы, лабораторное исследование образцов крови пациентов и использованы современные методы статистической обработки полученных данных.

Лабораторные исследования выполнены на высокотехнологичном оборудовании с проведением соответствующих программ контроля качества.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Выявлены расчетные эритроцитарные индексы M (Mentzer) и Si (Sirdah), которые в сочетании с дополнительной оценкой двух показателей обмена железа (ферритин и общая железосвязывающая способность сыворотки) позволяют выделить группу пациентов с высокой вероятностью носительства гемоглобинопатии при обследовании пациентов с микроцитарными гипохромными анемиями.
2. Выбор метода для подтверждения диагноза гемоглобинопатии зависит от ее варианта: для диагностики гомозиготных форм, сопровождающихся существенными изменениями соотношения фракций гемоглобина, достаточным является проведение агарозного электрофореза. Для подтверждения форм гемоглобинопатии, которые протекают со стертыми клинико-гематологическими проявлениями, отдавать предпочтение следует капиллярному электрофорезу, позволяющему выявлять минимальные изменения соотношения фракций гемоглобина.
3. Разработан алгоритм диагностики различных форм гемоглобинопатий для проведения направленного поиска носителей глобиновых аномалий с учетом их клинико-лабораторных особенностей, который включает 3 этапа лабораторного исследования и позволяет выявлять пациентов с гемоглобинопатиями в 98% случаев.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность и обоснованность полученных результатов научной работы обеспечена детальным теоретическим анализом проблемы, репрезентативным объемом выборки обследованных пациентов, достаточным количеством проведенных исследований и адекватным статистическим анализом полученных данных. Сформированные и обследованные группы больных сопоставимы по полу, возрасту, репрезентативны по количеству и могли использоваться для решения поставленных задач.

Материалы диссертационного исследования были доложены и обсуждены на Конкурсе научно-исследовательских инновационных проектов молодых ученых в рамках Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Профилактическая медицина – 2014» (победитель в номинации «Лучший научно-исследовательский проект», Санкт-Петербург, 2014), на 3-й и 4-й научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Трансляционная медицина: от теории к практике» (Санкт-Петербург, 2015, 2016), на Областном совещании специалистов клинической лабораторной диагностики (Вологда, 2015), на Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2015, 2016), на III Конгрессе Гематологов России (Москва, 2016), на Юбилейной конференции, посвященной 90-летию кафедры клинической

лабораторной диагностики СЗГМУ им. И.И. Мечникова «Лаборатория вчера, сегодня, завтра» (Санкт-Петербург, 2016).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования используются в учебном процессе на цикле «Клиническая лабораторная диагностика» на кафедре клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России (Санкт-Петербург) и внедрены в практику работы СПб ГУЗ «Консультативно-диагностический центр для детей» и ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России».

Личный вклад автора

Диссертант лично участвовала в планировании и организации научной работы. Автор самостоятельно выполнила исследование эритроцитарных параметров, показателей обмена железа, фракций гемоглобина методом ЭФ на агарозе, ИЭФ и КЭФ, а также молекулярно-генетическое исследование образцов крови всех пациентов. Все материалы, представленные в диссертационном исследовании, получены, обобщены, статистически обработаны и проанализированы автором лично.

Публикация результатов исследования

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования результатов диссертационных исследований.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 137 страницах машинописного текста, содержит 21 таблицу, иллюстрирована 40 рисунками и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы (включает 29 отечественных и 166 зарубежных источников).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование было включено 135 пациентов (67 мужчин, 68 женщин) различных возрастных групп (от 2 до 58 лет, среднее $16,4 \pm 1,2$ года), находившихся на обследовании и лечении в СПб ГУЗ «Консультативно-диагностический центр для детей» и ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России» в период с мая 2013 г. по ноябрь 2015 г.

Критерием включения в исследование являлось наличие микроцитарной гипохромной анемии. Критерием исключения служил возраст младше 2 лет,

поскольку до этого возраста соотношение фракций гемоглобина является нестабильным.

Из 135 пациентов у 126 человек были легкие или умеренные проявления анемического синдрома, по поводу которых они были направлены к гематологам с предварительным синдромальным диагнозом: «Микроцитарная гипохромная анемия» (41% – с диагнозом «железодефицитная анемия» (ЖДА), 34% – с диагнозом «гемоглобинопатия» (ГП), 25% – с диагнозом «анемия неуточненная») для его верификации. По результатам проведенного лабораторного обследования они были разделены на 2 группы: основную и контрольную. В основную группу вошло 95 пациентов с различными формами гемоглобинопатий (по МКБ-10). Из них у 86 пациентов диагноз был поставлен впервые:

- α -талассемия (гемоглобинопатия H) (n=1)
- β -талассемия (малая форма) (n=81)
- β -талассемия (смешанная форма с другой гемоглобинопатией) (n=2)
- гемоглобинопатия C (n=1)
- гемоглобинопатия D (n=1),

которые сопровождалась микроцитозом (MCV < 80 фл), гипохромией (MCH < 27 пг) эритроцитов и анемией легкой степени тяжести (Hb > 90 г/л).

У оставшихся 9 пациентов основной группы диагноз был установлен ранее:

- β -талассемия (большая форма) (n=5)
- β -талассемия (промежуточная форма) (n=2)
- гемоглобинопатия S (n=2),

которые сопровождалась анемией средней (Hb 70 – 90 г/л) или тяжелой степени (Hb < 70 г/л). Данная категория пациентов была включена в исследование для сравнительной оценки методов ЭФ и изучения спектра мутаций β -глобинового гена.

Контрольную группу составили 40 пациентов с ЖДА [микроцитарная (MCV < 80 фл), гипохромная (MCH < 27 пг) анемия легкой степени (Hb > 90 г/л)].

Характеристика групп больных по полу и возрасту представлена в таблице 1. Достоверных различий между группами пациентов не было ни по полу ($\chi^2=1,14$; $p > 0,05$), ни по возрасту (критерий Краскела – Уоллиса: $H=2,03$; $p > 0,05$).

Таблица 1

Характеристика групп больных по полу и возрасту

Группы	Возраст, годы			Пол	
	min – max		M \pm m (Me)	Мужской	Женский
Основная группа (n=95)	2 – 18	2 – 18	8,1 \pm 0,6 (7,5)	35	28
	>18	19 – 58	33,7 \pm 2,2 (31)	15	17
Контрольная группа (n=40)	2 – 18	2 – 18	8,6 \pm 1 (8)	14	14
	>18	19 – 54	34,2 \pm 2,7 (34)	3	9

Пациенты основной группы с минимальными клиническими проявлениями заболевания (n=86).

У пациентов данной группы отмечался анемический синдром легкой или умеренной выраженности, у 9 из них – легкие признаки сидеропении (нарушение роста ногтей, волос, сухость кожи, атрофия сосочков языка, заеды в углах рта). Из предъявляемых жалоб: общее соматическое неблагополучие в виде утомляемости, сниженной работоспособности, сонливости, дискомфорта в желудочно-кишечном тракте. Часть пациентов никаких жалоб не предъявляла и была направлена к гематологу на основании изменений в клиническом анализе крови, выявленных при плановом обследовании. По данным объективного осмотра, у некоторых пациентов отмечалась бледность кожных покровов и видимых слизистых. У части пациентов при пальпации печень выступала из-под края реберной дуги (до +2 см). По результатам рентгенологического исследования патологии развития костной системы у данной категории пациентов не обнаружено. По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости (УЗИ ОБП): у 20% пациентов была выявлена незначительная спленомегалия, у 30% – ультразвуковые признаки реактивного состояния паренхимы печени. У остальных пациентов признаков патологии органов брюшной полости не выявлено.

В клиническом анализе крови у 79 пациентов отмечалась микроцитарная гипохромная анемия, а у 7 – микроцитоз и гипохромия без снижения гемоглобина. Эти изменения служили поводом для их направления к гематологу. При дальнейшем лабораторном обследовании, проведенном в рамках данного исследования, этим пациентам был установлен вариант гемоглобинопатии.

Пациенты основной группы с установленным ранее диагнозом (n=9).

С диагнозом «*β-талассемия (промежуточная форма)*» в исследование было включено 2 женщины, 48 и 57 лет, у которых первые признаки заболевания появились с двухлетнего возраста. На момент осмотра обе пациентки предъявляли жалобы на утомляемость, сниженную работоспособность, слабость, одышку при физической нагрузке. Объективно: внешний вид пациенток не изменен. В клинике на первый план выступали признаки гемолитической анемии. Отмечалась субиктеричность склер и кожи. Имелись признаки гепатоспленомегалии с перегрузкой железа. По результатам лабораторного обследования у пациентов отмечалась микроцитарная гипохромная гиперрегенераторная анемия средней степени тяжести.

С *большой формой β-талассемии* в исследование было включено 5 пациентов (2 мужчины, 3 женщины, от 3 до 32 лет), которым диагноз был установлен в детстве. На момент осмотра: кожные покровы и слизистые оболочки бледные с землисто-желтушным оттенком. У больных определялись изменения в структуре костной ткани в виде деформации костей черепа, ребер, челюстей. При рентгенографии выявлялось снижение плотности костей, утолщение и искривление трубчатых костей. У 4 пациентов в детстве (в возрасте 3 – 4 лет) была удалена селезенка. Печень определялась увеличенной, плотной консистенции, с гладкой поверхностью. Отмечались признаки сердечно-сосудистой недостаточности, кардиомиопатия, гемосидероз внутренних органов.

Тяжесть состояния определялась степенью анемии (на момент обследования уровень гемоглобина в периферической крови больных составлял от 75 до 84 г/л), гемолиза и развитием печеночной недостаточности. 4 пациента получали регулярные гемотрансфузии донорских эритроцитов с частотой 7 – 24 донорских дозы в год, хелаторную терапию (десферал, оксиджад).

В число обследованных вошли 2 пациента африканского происхождения с *HbS*. Пациент с *серповидноклеточной анемией*, мужчина 42 лет, имел гомозиготную форму, сопровождающуюся тяжелой гемолитической анемией. Клиника характеризовалась чередованием состояний относительной компенсации и кризов, которые провоцировались различными факторами и сопровождались появлением в периферической крови серповидных эритроцитов. На момент обследования пациент был госпитализирован в стационар с тяжелым гемолитическим кризом, который сопровождался ознобом, гемоглобинурией и артралгией. В периферической крови – тяжелая нормохромная регенераторная анемия с пойкилоцитозом, мишеневидными и серповидными эритроцитами.

У пациентки с *гетерозиготной формой HbS (носительство признаков серповидно-клеточности)*, 27 лет, состояние сопровождалось анемией легкой степени тяжести (Hb 110 г/л), с небольшим микроцитозом, гипохромией и умеренным количеством серповидных эритроцитов в мазке периферической крови. Пациентка обратилась к гематологу по поводу анемии. Объективно: состояние удовлетворительное. Слизистые и склеры обычного цвета. Печень и селезенка не пальпируются.

Пациенты *контрольной группы* имели клинические проявления в виде анемического синдрома и сидеропении разной степени выраженности: нарушение роста волос, ногтей, сухость кожи, атрофия сосочков языка, заеды в углах рта, сниженный аппетит. В периферической крови у пациентов отмечались микроцитарная гипохромная анемия легкой степени тяжести и снижение железа и ферритина сыворотки.

Всем пациентам однократно были проведены следующие виды лабораторных исследований:

1. Гематологические:

- эритроцитарные параметры клинического анализа крови;
- расчетные индексы.

2. Биохимические:

- показатели обмена железа, С-реактивный белок, общий билирубин и его фракции, гаптоглобин;

- активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД);

- исследование фракций гемоглобина.

3. Молекулярно-генетический анализ:

- выявление мутации β -глобинового гена.

Материалом для исследования служила венозная кровь. Для оценки эритроцитарных параметров, активности Г-6-ФД, электрофореза и молекулярно-генетического анализа кровь собирали в пробирки с K_3 ЭДТА в качестве

антикоагулянта. Для изучения показателей обмена железа – в пробирки с активатором свертывания (Vacuette, GreinerBio-One, Австрия).

1. Гематологические методы

Клинический анализ крови выполняли на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex XT-4000i (Sysmex, Япония). Оценивали следующие показатели: концентрацию гемоглобина (Hb, г/л), количество эритроцитов (RBC, $\times 10^{12}/л$), средний объем эритроцитов (MCV, фл), среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (MCH, пг), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроцитах (MCHC, г/л), ширину распределения эритроцитов по объему (RDW, %), гематокрит (HCT, %), ретикулоциты (Rt, %).

Индексы рассчитывали по формулам, приведенным в таблице 2.

Таблица 2

Индексы, использованные для дифференциальной диагностики ЖДА и ГП

Индекс	Формула
E (Ehsani)	$MCV - (10 \times RBC)$
E&F (England&Fraser)	$MCV - RBC - 5 \times Hb - 3,4$
G&K (Green&King)	$MCV^2 \times RDW / 100 \times Hb$
M (Mentzer)	MCV / RBC
Si (Sirdah)	$MCV - RBC - 3 \times Hb$
S (Srivastava)	MCH / RBC
RDWDI	$MCV \times RDW / RBC$
RBC/Hb	RBC / Hb

2. Биохимические методы

Показатели обмена железа, СРБ, общий билирубин и гаптоглобин определяли на анализаторе Cobas 6000 (Roche, Швейцария). Исследовали: сывороточное железо (СЖ), сывороточный ферритин (СФ), общую железосвязывающую способность сыворотки (ОЖСС), растворимые трансферриновые рецепторы (РТР), коэффициент насыщения трансферрина ($K_{\text{нас. трансферрина}}$). Поскольку СФ является острофазным белком, для исключения влияния на его концентрацию острого воспаления всем пациентам проводили измерение С-реактивного белка (СРБ). Гаптоглобин, общий и прямой билирубин определяли в качестве маркеров гемолиза. Использовали референтные значения из инструкций к тест-системам Roche.

Для подтверждения ГП проводили исследование фракций гемоглобина с помощью различных вариантов электрофореза.

Электрофорез на агарозе проводили в щелочных (Alkaline), кислых (Acid) условиях и методом изоэлектрофокусирования (ИЭФ) (система для электрофореза SAS, Helena Biosciences, Великобритания). Материалом для исследования служил гемолизат, приготовленный из цельной крови с использованием лизирующего реактива производителя тест-систем, содержащий Тритон Х-100. Электрофорез проводили сразу после приготовления гемолизата на системе электрофореза SAS-1 Plus при соблюдении рекомендованных производителем параметров. Гели окрашивали на системе обработки гелей SAS-2. Идентифицировали фракции с

использованием программного обеспечения «Platinum-3», прилагаемого к системе SAS. Для оценки результатов использовали пороговые значения, рекомендованные производителем: $HbA_2 > 3,7 \%$, $HbF > 2 \%$.

Капиллярный электрофорез проводили на автоматизированной системе капиллярного электрофореза MINICAP (Sebia, Франция). Материал для исследования (цельную кровь) хранили при $2 - 8 \text{ }^\circ\text{C}$ не более 1 недели. Результаты оценивали по пороговым значениям, предлагаемым производителем: $HbA_2 > 3,2\%$, $HbF > 1\%$.

Для исключения сопутствующей ферментопатии определяли *активность фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД)* в эритроцитах (в гемолизате). Активность Г-6-ФД определяли методом, основанном на оптическом тесте Варбурга в реакции превращения глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф) в 6-фофоглюконат (6-ФГ) под действием Г-6-ФД. Оптическую плотность регистрировали при $37 \text{ }^\circ\text{C}$ и длине волны 340 нм на полуавтоматическом анализаторе Vitalon-400 (КНР). Для оценки результатов использовали референтный интервал $197 - 516 \text{ E}/10^{12}$ эритроцитов [Бу А.Г., 2013].

3. Молекулярно-генетический анализ.

Проводили с использованием тест-системы, позволяющей идентифицировать 22 мутации β -глобинового гена, наиболее распространенные в Средиземноморье (β -Globin StripAssay Kit, ViennaLabDiagnostics, Австрия). В основе лежит метод обратной гибридизации продуктов мультиплекс-ПЦР с олигонуклеотидными зондами, фиксированными на стрипах.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программ Statistica for Windows, v. 6.0 с использованием параметрических и непараметрических критериев. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Диагностическую ценность исследуемых маркеров определяли с помощью ROC-анализа. Рассчитывали отношение правдоподобий LR (LikelihoodRatio) – показатель, объединяющий информацию о чувствительности и специфичности, используемый для оценки вероятности заболевания на основании положительного [LR(+)] и отрицательного [LR(-)] результата тестов.

Результаты исследования

Эритроцитарные параметры и расчетные индексы

При сравнении основной ($n=86$) и контрольной ($n=40$) групп было обнаружено, что при одной степени анемии (Hb выше 90 г/л) ряд эритроцитарных параметров (MCV, MCH, RBC) имел достоверные различия ($p < 0,001$). Аналитические характеристики данных параметров и расчетных индексов для дифференциальной диагностики ГП и ЖДА оценивали с использованием ROC-анализа. Рассчитывали чувствительность, специфичность, площадь под кривой (AUC) и прогностическую ценность показателей с расчетом отношения правдоподобий (LR).

Значение AUC (площади под кривой) у всех изученных параметров находилось в диапазоне $0,9 - 1,0$, что позволяет охарактеризовать их качество для

диагностики ГП, как отличное. Максимальное значение показателя отмечалось у индекса $Si = 0,972$.

Чувствительность параметров колебалась от 80,3% до 90,1%, специфичность – от 87,5% до 97,5%. Наибольшей чувствительностью для выявления ГП обладали RBC (90,1%), G&K (90,1%) и Si (90,1%), а специфичностью – M и Si (97,5%) (рисунок 1).

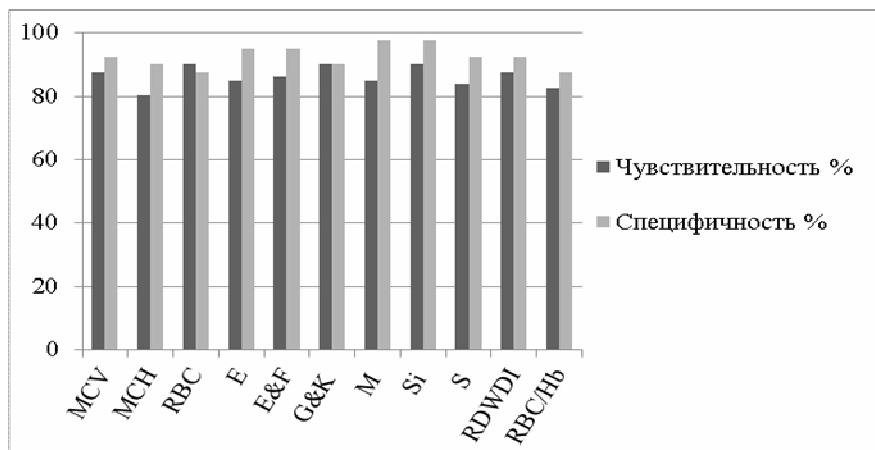


Рисунок 1. Чувствительность и специфичность эритроцитарных параметров и индексов.

Значение $[LR(+)]$ позволило ранжировать исследуемые параметры по способности положительных результатов распознавать наличие заболевания (ГП): Si (36,1) и M (34) как «отличные», E и E&F (17,3), RDWDI (11,7), S (11,2) и MCV (11,69) как «хорошие», оставшиеся параметры и индексы (RBC, MCH, G&K, RBC/Hb) – как «удовлетворительные» (рисунок 2).

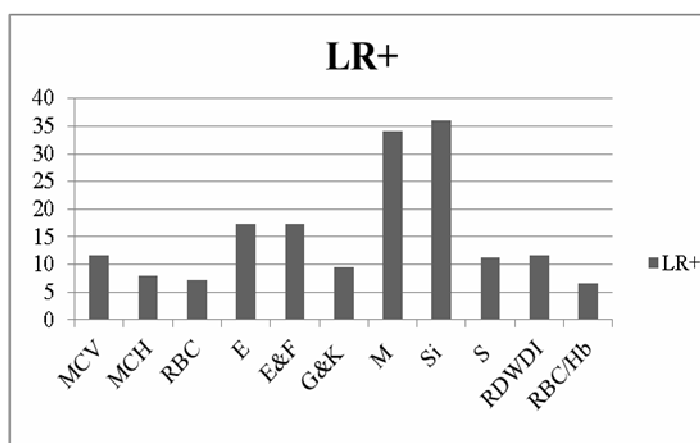


Рисунок 2. Значения $[LR(+)]$ эритроцитарных параметров и индексов.

Величина отношения правдоподобия $[LR(-)]$ позволила расположить исследуемые параметры по способности отрицательного результата предсказывать отсутствие заболевания (ГП). Поскольку значение $[LR(-)]$ для Si составило 0,1, его способность распознавать отсутствие заболевания признана «хорошей», остальные признаны «удовлетворительными» (рисунок 3).

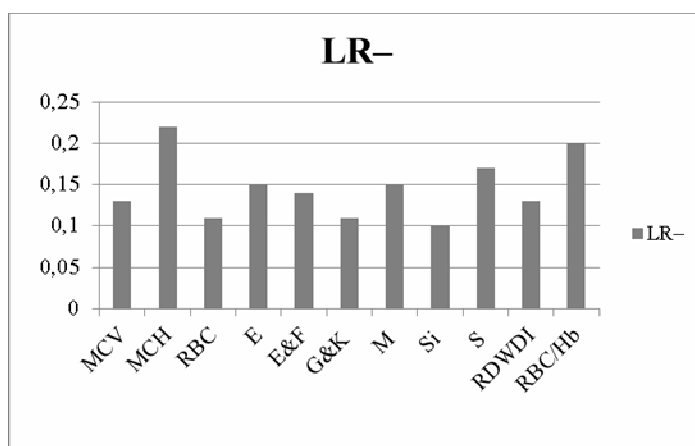


Рисунок 3. Значения [LR(-)] эритроцитарных параметров и индексов.

Таким образом, при сравнении трех эритроцитарных параметров и восьми расчетных индексов наиболее эффективными для целей скрининга на ГП оказались индексы M (Mentzer) и Si (Sirdah).

Проведение ROC-анализа дает возможность не только оценить аналитические характеристики тестов, но и определить пороговые значения, при которых они будут максимально эффективными в отношении выявления патологии. ROC-анализ позволил нам определить пороговые значения для индексов M < 11,5 и Si < 25, которые отличались от предложенных авторами формул (<13 и <27, соответственно) и позволили повысить диагностическую ценность данных маркеров для выявления ГП на 7,7% (таблица 3)

Таблица 3

Сравнение чувствительности и специфичности расчетных индексов, полученных в ходе настоящего исследования¹ и предложенных авторами²

Индексы	Чувствительность ¹	Чувствительность ²	Специфичность ¹	Специфичность ²	Youden Index ¹	Youden Index ²
Mentzer	84,8%	94,6%	97,5%	80%	82,3%	74,6%
Sirdah	90,1%	94,9%	97,5%	85%	87,6%	79,9%

Показатели обмена железа

Другим важным аспектом работы оказалась оценка необходимости использования показателей обмена железа в диагностике ГП.

Сравнение показателей обмена железа у пациентов основной и контрольной групп показало, что различия между всеми параметрами носили достоверный характер ($p < 0,001$). Чувствительность изученных параметров колебалась от 82,9% до 95,8%, специфичность – от 90% до 97,5%. Максимальной чувствительностью обладал параметр ОЖСС (95,8%), а специфичностью – СФ (97,5%). Параметры ОЖСС и СФ по способности положительных результатов распознавать наличие заболевания LR(+) расценивали как «отличные» (LR(+)) 36,4 и 35,8), а по способности отрицательного результата указать на отсутствие заболевания LR(-) – как «хорошие» (LR(-)) 0,04 и 0,11) (таблица 4). При этом следует отметить, что у некоторых пациентов с ГП отмечалось снижение уровня

СЖ, СФ и повышение ОЖСС, что указывало у них на наличие сопутствующего дефицита железа.

Таблица 4

Аналитические характеристики показателей обмена железа для дифференциальной диагностики ГП и ЖДА.

Индексы	Площадь под кривой (AUC)	Отрезные значения (cutoff)	Чувствительность, %	Специфичность, %	Отношение правдоподобий	
					+LR	-LR
СЖ	0,915	>11,8	82,9	90,0	8,29	0,19
СФ	0,973	>17,0	89,5	97,5	35,8	0,11
ОЖСС	0,981	<73,5	95,8	97,4	36,4	0,04
РТР	0,987	<7,65	93,4	94,4	16,8	0,07
К _{нас.трансферрина}	0,976	>17,2	94,4	97,2	34	0,06

Таким образом, полученные данные позволили установить, что наибольшей диагностической ценностью для дифференциальной диагностики ГП и ЖДА обладают СФ и ОЖСС. В то же время, как следует из полученных нами данных, наличие ГП, а именно β -талассемии, не исключает ЖДА, поэтому для выявления и мониторинга больных с клинически манифестными формами ГП исследование показателей обмена железа остается обязательным.

Показатели гемолиза. ГП, в первую очередь талассемии, принято относить к группе гемолитических анемий. Однако необходимо отметить, что гемолиз развивается у пациентов с тяжелыми формами (большая, промежуточная). У пациентов с малыми гетерозиготными формами гемолиз возникает редко и в данном исследовании отмечался только у одной пациентки. В качестве маркеров гемолиза оценивались общий билирубин и его фракции, а также гаптоглобин. Содержание гаптоглобина находилось в пределах $0,8 \pm 0,1$ г/л, общего билирубина – $9,2 \pm 0,8$ мкмоль/л, прямого – $3,2 \pm 0,3$ мкмоль/л.

Электрофорез гемоглобина.

Изучение вклада различных вариантов ЭФ для установления ГП и ее формы позволило нам убедиться в том, что ЭФ в агарозном геле, изоэлектрофокусирование (ИЭФ) и капиллярный электрофорез (КЭФ) обладают достаточно высокими аналитическими возможностями в отношении выявления основных фракций гемоглобина, но каждый метод имеет свои особенности.

1. Использование ЭФ для подтверждения β -талассемии.

Среди обследованных нами пациентов основной группы, по совокупности результатов всех вариантов ЭФ, у 81 из 86 человек была установлена малая форма β -талассемии.

При β -талассемии изменяется соотношение нормальных фракций гемоглобина (повышается HbA₂ и/или HbF). HbA₂ при ЭФ в щелочных условиях и ИЭФ располагается рядом с линией старта, а при КЭФ – в виде отдельного пика. В связи с этим, трудностей с определением данной фракции в ходе исследования не возникло: увеличение HbA₂ было обнаружено в 77 образцах крови пациентов

при проведении всех трех вариантов разделения гемоглобина, что позволило подтвердить у них наличие β -талассемии.

Фракция HbF при ЭФ на агарозе и ИЭФ располагается непосредственно вблизи от HbA, в связи с чем в ходе исследования возникали трудности ее идентификации при низком содержании (< 10%). При проведении КЭФ HbF располагается в виде отдельного пика, поэтому хорошо выявляется даже при низких значениях (от 0,3%) (таблица 5).

Таблица 5

Выявление фракций гемоглобина у пациентов с малой формой β -талассемии при проведении различных видов ЭФ

Фракция Hb	Всего 81 пациент		
	«щелочной» ЭФ	ИЭФ	КЭФ
HbA ₂ ↑	77	77	77
HbF ↑	-	5	38
Всего/из	77/81	78/81	81/81
% выявления	95,1 %	96,3 %	100 %

При ЭФ в щелочных условиях HbF не был обнаружен ни у одного пациента с β -талассемией, при ИЭФ – обнаружен у 5 пациентов (6,2%), при КЭФ – у 38 (46,9%). Таким образом, представленные варианты ЭФ обладали разной способностью по идентификации HbF, что следует учитывать при трактовке результатов электрофореза.

2. Использование ЭФ для подтверждения редких форм ГП.

В таблице 6 представлены результаты разделения гемоглобина на фракции у пациентов с гемоглобинопатиями H, C, D и β -талассемией, смешанной с ГП D.

Таблица 6

Результаты разделения гемоглобина у пациентов с редкими ГП (n=5)

Тип ГП	Тип Hb	ЭФ на агарозе	ИЭФ	КЭФ	
α -талассемия (n=1)	HbH	5,6%	7%	8,5%	
β -талассемия + HbD (n=2):	1.	HbF	не обнаружен	не обнаружен	3,8%
		HbD	12,9%	12%	8,8%
	2.	HbF	не обнаружен	не обнаружен	2,4%
		HbD	2,5%	2%	1,6%
Гемоглобинопатия C (n=1)	HbC	10,5%	8,5%	7,1%	
Гемоглобинопатия D (n=1)	HbD	12%	11,8%	10,7%	

ЭФ в агарозном геле позволяет разделять основные аномальные фракции гемоглобина (HbC, D, E, H, O и др.), а также производить их количественную оценку. К недостаткам данного метода можно отнести необходимость проведения двух этапов исследования для типирования фракций гемоглобина. На первом этапе ЭФ проводят в щелочных условиях, что позволяет выявить основные

аномальные формы гемоглобина (S, D, C, E), но не позволяет их дифференцировать (электрофоретическая подвижность HbS не отличается от подвижности HbD, подвижность HbC – от подвижности HbA₂ или HbE). Далее для разделения аномальных форм гемоглобинов, выявленных на первом этапе, используют гели, в которых происходит разделение в кислых условиях. Путем сравнения профилей, полученных на щелочном и кислом гелях, фракции гемоглобинов можно верифицировать. ИЭФ и КЭФ позволяют типировать основные формы гемоглобина в один этап.

Таким образом, все 3 метода ЭФ позволили выявить фракции с аномальной подвижностью у данной группы пациентов и установить у них вариант ГП.

3. Использование ЭФ для подтверждения ГП у пациентов с большой, промежуточной формой β-талассемии и гемоглобинопатией S.

Мы сравнили результаты разделения гемоглобина у пациентов с установленным ранее диагнозом (5 пациентов с большой формой β-талассемии, 2 – с промежуточной формой β-талассемии и 2 – с HbS) (таблица 7).

Таблица 7

Результаты разделения гемоглобина у пациентов с большой и промежуточной формой β-талассемии и у пациентов с Hb S [Me, min – max]

Форма гемоглобинопатии	Тип Hb	ЭФ на агарозе	ИЭФ	КЭФ
Промежуточная форма β-талассемии (n = 2)	HbA ₂	6,5% 6 – 7%	7,0% 6,3 – 7,7%	6,1% 5,3 – 6,9%
	HbF	не обнаружен	6% 0 – 12%	7,8% 5,1 – 10,4 %
Большая форма β-талассемии (n = 5)	HbF	35,3% 28,7 – 40,5%	33,2% 27,3 – 38,0%	29,9% 26,9 – 30,9%
Серповидноклеточная анемия (n = 1)	HbF	19,4%	19,1%	11,9%
	HbS	78,0%	79,7%	85,1%
Гемоглобинопатия S (n = 1)	HbS	8,9%	9,6%	9,8%

Оказалось, что при высокой концентрации HbF (> 10%) у пациентов с большой формой β-талассемии результаты разделения гемоглобина тремя видами ЭФ практически не отличаются. У пациентов с промежуточной формой β-талассемии, у которых повышены HbA₂ и HbF, возникли трудности с идентификацией фракции HbF при разделении гемоглобина на агарозе: в щелочных условиях HbF не выявлен ни у одного пациента, при ИЭФ – у 1 (HbF 12%). КЭФ позволил выявить HbF у обоих пациентов данной группы (5,1 и 10,4%). Полученные данные подтверждают мнение о том, что методы разделения на агарозе хорошо выявляют фракцию HbF > 10%. При более низком ее содержании необходимо использовать системы, обладающие большей чувствительностью, в данном случае – КЭФ.

Таким образом, ЭФ на агарозе позволил подтвердить ГП у 94,2% пациентов основной группы, ИЭФ – у 95,4%, КЭФ – у 100%. Подтверждение диагноза гемоглобинопатии должно проводиться с учетом особенностей ее варианта.

Проведение агарозного электрофореза является достаточным для верификации большой формы β -талассемии, сопровождающейся существенными изменениями в соотношении фракций гемоглобина. При подозрении на форму гемоглобинопатии со стертыми клинико-гематологическими проявлениями отдавать предпочтение следует капиллярному электрофорезу, позволяющему выявлять минимальные изменения в соотношении фракций гемоглобина и фракции с аномальной подвижностью.

Активность Г-6-ФД. Определение активности фермента Г-6-ФД в эритроцитах проводили пациентам обеих групп. Достоверных различий по активности Г-6-ФД в двух группах не наблюдалось ($p > 0,05$). В основной группе активность составила $363,3 \pm 14,3 \text{ E}/10^{12} \text{ RBC}$, а в контрольной – $375,5 \pm 13,2 \text{ E}/10^{12} \text{ RBC}$. Ни у одного пациента обеих групп не была выявлена недостаточность фермента.

Молекулярно-генетический анализ.

У пациентов основной группы было выявлено 10 вариантов мутаций β -глобинового гена, из них 62% приходится на долю двух мутаций (codon 8 (-AA) и IVS 1.110 (G>A)). Остальные 8 мутаций были обнаружены в 32% случаев. У 6% обследованных с использованием данной тест-системы мутации β -глобинового гена выявить не удалось (таблица 8). Этот факт не дает повода сомневаться в диагнозе, а указывает на наличие у них мутаций, которые не входят в диапазон наиболее распространенных в Средиземноморье и, соответственно, не включены в данную тест-систему.

Таблица 8

Мутации β -глобинового гена, выявленные у пациентов основной группы

Мутация	Тип талассемии	Частота
codon 8 (-AA)	$\beta 0$	36%
IVS 1.110 (G>A)	$\beta +$	26%
codon 5 (-CT)	$\beta 0$	6%
IVS 2.1 (G>A)	$\beta 0$	5%
IVS 2.745C>G)	$\beta +$	4%
IVS 1.5 (G>C)	$\beta +$	4%
IVS 1.6 (T>C)	$\beta +$	5%
IVS 1.1 (G>A)	$\beta 0$	4%
codon 8\9	$\beta 0$	3%
-101 (C>T)	$\beta +$	1%
Мутация не выявлена	-	6%
Всего		100%

Обоснование диагностического алгоритма

Использование индексов M (Mentzer) и Si (Sirdax) позволило разделить всех включенных в исследование пациентов с микроцитарной гипохромной анемией (или с микроцитозом и гипохромией без снижения гемоглобина) на две группы: первая – 49 пациентов с низкой вероятностью носительства ГП, вторая – 77 пациентов с высокой вероятностью ГП (рисунок 4).

Учет результатов определения СФ и ОЖСС позволил у 40 из 49 пациентов с низкой вероятностью ГП установить наличие ЖДА, у 9 – исключить этот диагноз. Среди 77 пациентов с высокой вероятностью ГП было выявлено 4 пациента, у которых показатели обмена железа были снижены, что, однако, не исключало у них ГП (рисунок 5).

Результаты КЭФ позволили подтвердить ГП у 85 из 86 пациентов, подозрительных на ГП по результатам предыдущего этапа. Кроме того, у 1 из 40 пациентов с диагнозом ЖДА так же была выявлена ГП (β -талассемия).

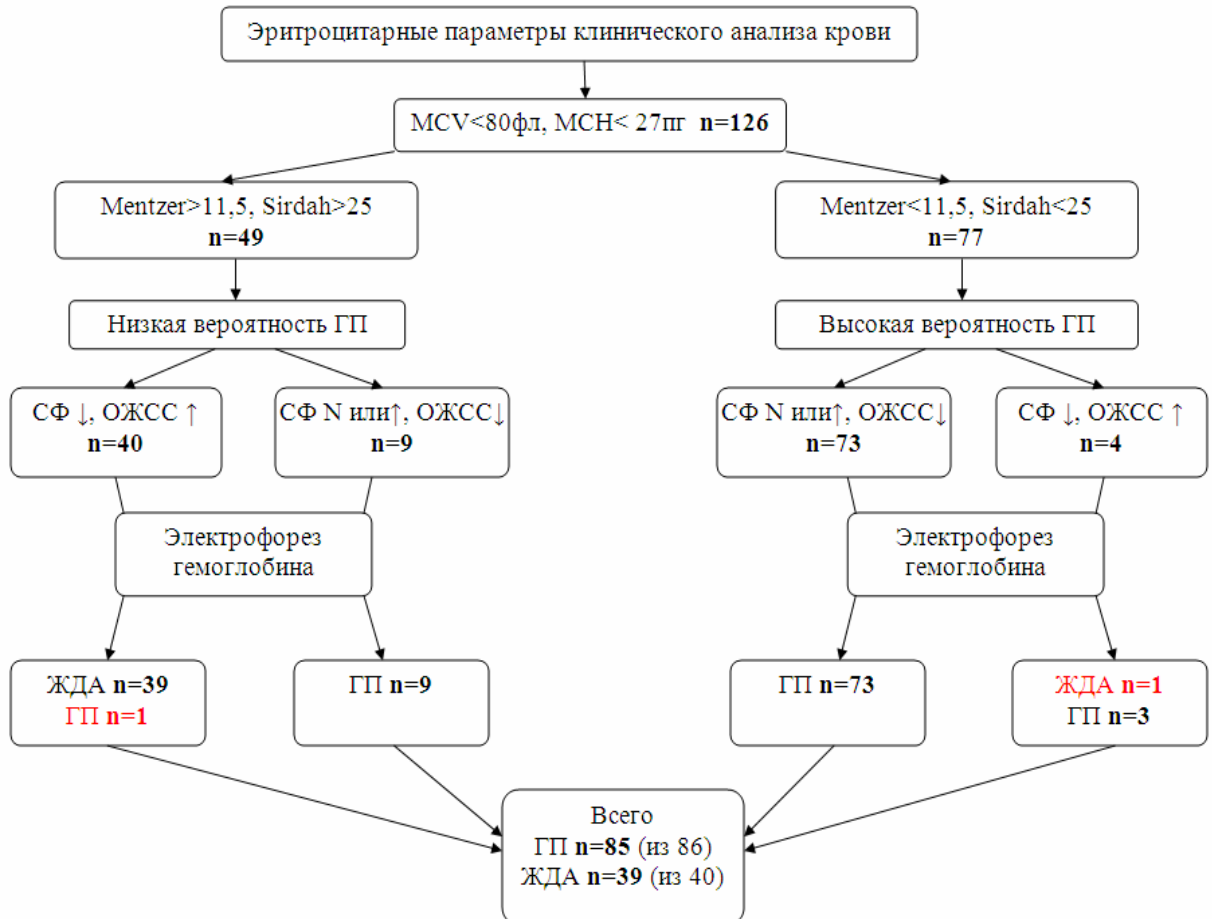


Рисунок 4. Этапы постановки диагноза пациентам с микроцитарной гипохромной анемией с использованием предложенных лабораторных маркеров.

Таким образом, использование эритроцитарных индексов в сочетании с показателями обмена железа и результатов электрофореза гемоглобина позволили в нашем исследовании установить вариант ГП у 85 из 86 пациентов основной группы.

Полученные данные легли в основу алгоритма диагностики различных форм ГП. Он состоит из трех этапов (рисунок 5):

1. Первый этап – скрининг на ГП. Он заключается в выделении группы пациентов, в том числе с минимальной клинической симптоматикой заболевания, из группы микроцитарных гипохромных анемий с использованием четырех маркеров: двух индексов (M и Si) и двух показателей обмена железа (СФ и ОЖСС).

2. Второй этап – проведение капиллярного электрофореза гемоглобина для подтверждения диагноза ГП.

3. Третий этап – установление характера носительства ГП с помощью молекулярно-генетического анализа.

Чувствительность и специфичность данного алгоритма составили 98%, что для целей скрининга, по нашему мнению, является достаточным.

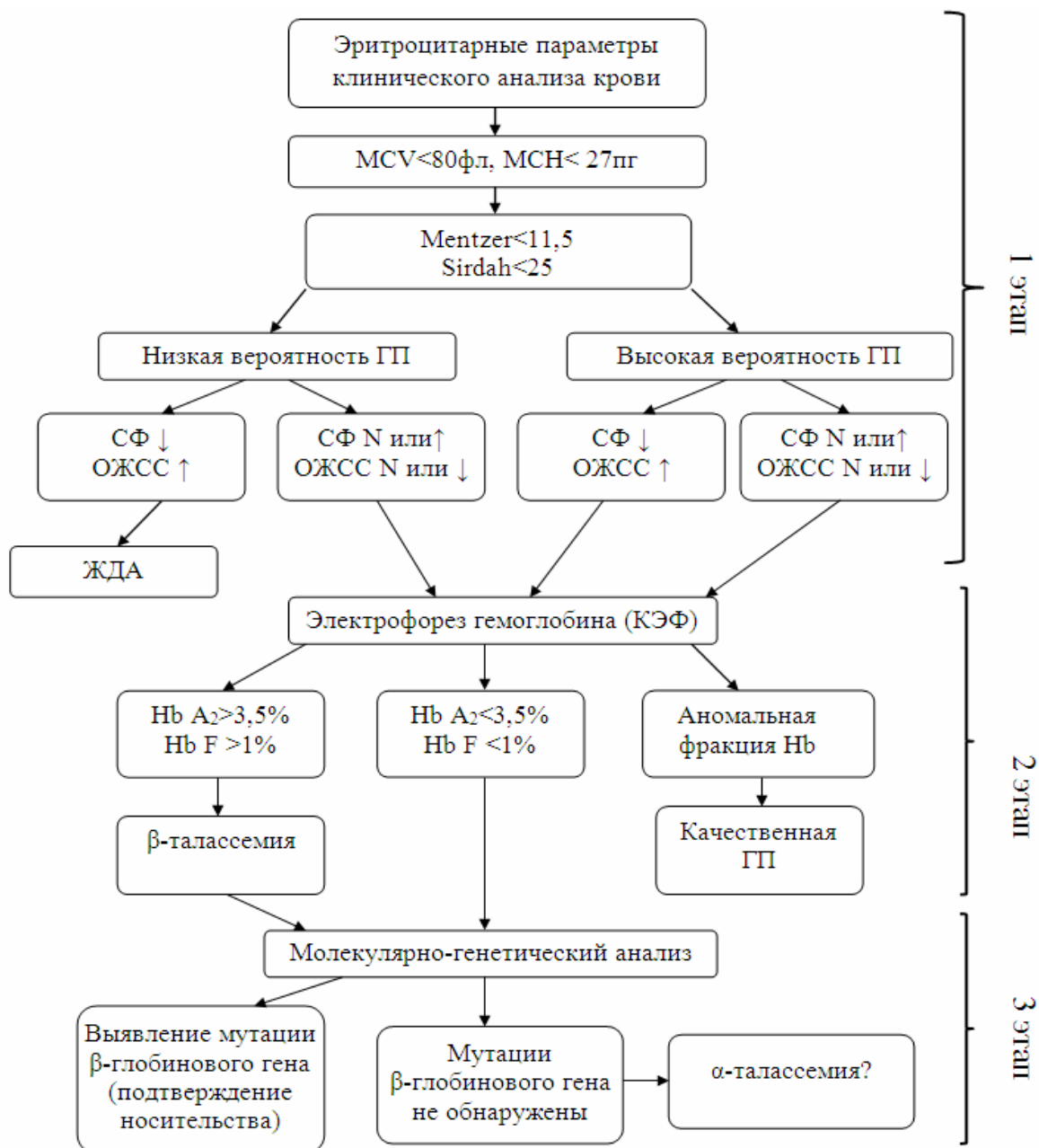


Рисунок 5. Алгоритм диагностики различных форм гемоглобинопатий.

По нашему мнению, предложенный алгоритм может использоваться для проведения направленного поиска носителей глобиновых аномалий с учетом их клинико-гематологических особенностей. С точки зрения оптимизации затрат на лабораторный этап скрининга, использование комплекса эритроцитарных индексов и показателей обмена железа позволит в будущем избежать

избыточного исследования фракций гемоглобина и, тем самым, снизить затраты на скрининг ГП. С клинической точки зрения этих данных достаточно для подтверждения диагноза, оптимизации лечения и оценки прогноза. При этом, для выявления β -талассемии и качественных ГП в большинстве случаев достаточно проведения первых двух этапов. Необходимость проведения третьего этапа должны вместе решать гематолог и специалист-генетик. Выявления мутации глобиновых генов целесообразно возложить на специализированные лаборатории, оснащенные соответствующим оборудованием и персоналом для проведения молекулярно-биологического исследования. Этот этап является предметом наших дальнейших научных интересов.

Решение проблемы скрининга на ГП может быть встроено в сложившуюся в Санкт-Петербурге систему оказания лабораторных услуг в крупных клиничко-диагностических лабораториях (КДЛ), оснащенных современным высокопроизводительным оборудованием. На них может быть возложено проведение первого этапа: выявление группы пациентов с высокой вероятностью носительства ГП. Это не потребует дополнительных финансовых затрат, поскольку расчет эритроцитарных индексов (M и Si) основан на результатах рутинного клинического анализа крови, проводимого на гематологических анализаторах. Также в ряде КДЛ при наличии системы для КЭФ возможно проведение оценки фракций гемоглобина для подтверждения носительства ГП.

Внедрение данного алгоритма в практику лечебных учреждений создаст условия для направленного поиска носителей ГП и обеспечит создание реестра таких пациентов. Своевременное установление диагноза ГП поможет избежать диагностических ошибок и избавит от назначения ненужных лечебных препаратов и развития осложнений.

ВЫВОДЫ

1. Расчетные эритроцитарные индексы M (Mentzer) и Si (Sirdah), при пороговых значениях ниже 11,5 и 25, соответственно, обладают наибольшей диагностической ценностью в отношении выявления пациентов с гемоглобинопатиями, сопровождающимися минимальными клиничко-гематологическими проявлениями заболевания.

2. Комплекс маркеров, включающий два расчетных индекса – M (Mentzer) и Si (Sirdah) и два параметра обмена железа (ферритин и общая железосвязывающая способность сыворотки), обладает достаточной чувствительностью и специфичностью для выявления группы пациентов с высокой вероятностью носительства гемоглобинопатии и проведения скрининга.

3. В рамках скрининга для подтверждения варианта гемоглобинопатии наиболее целесообразно использование капиллярного электрофореза в связи с возможностью полной автоматизации процесса, высокой степенью стандартизации метода и способностью выявлять минимальные изменения в соотношении фракций гемоглобина.

4. Для диагностики гомозиготных форм гемоглобинопатий, сопровождающихся существенными изменениями соотношения фракций гемоглобина, достаточным является проведение агарозного электрофореза.

5. Выявлено 10 вариантов мутаций β -глобинового гена у пациентов с β -талассемией, среди которых 62% приходится на долю двух мутаций (codon 8 (-AA) и IVS 1.110 (G>A)).

6. Разработан алгоритм ранней диагностики различных форм гемоглобинопатий, в том числе с минимальными клинико-гематологическими проявлениями заболевания, который включает три этапа: скрининг на носительство гемоглобинопатии на основании эритроцитарных индексов и показателей обмена железа; исследование фракций гемоглобина для подтверждения диагноза; молекулярно-генетический анализ для идентификации мутаций глобинового гена и установления характера носительства.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты проведенного исследования позволяют сформулировать практические рекомендации для врачей клинической лабораторной диагностики, гематологов, педиатров, терапевтов.

1. При обследовании пациентов с микроцитарной гипохромной анемией, помимо оценки эритроцитарных параметров гематологического анализатора, следует дополнительно рассчитывать эритроцитарные индексы M (Mentzer) и Si (Sirdah) по формулам $M = MCV/RBC$; $Si = MCV - RBC - 3 \times Hb$ (концентрация гемоглобина в г/дл).

2. Пациентам с микроцитарной гипохромной анемией следует оценивать показатели обмена железа (СФ и ОЖСС). Их снижение свидетельствует о наличии дефицита железа, но не исключает наличие гемоглобинопатии.

3. Если у пациента с микроцитарной гипохромной анемией индекс M < 11,5 и Si < 25, то вне зависимости от результатов СФ и ОЖСС их следует направить на исследование фракций гемоглобина.

4. При подозрении на вариант гемоглобинопатии, сопровождающийся нормальным соотношением фракций гемоглобина (α -талассемия) или на носительство ГП (без гематологических и лабораторных проявлений), необходимо проведение молекулярно-генетического исследования.

5. Расчетные эритроцитарные индексы следует внедрить в существующие лабораторные информационные системы (ЛИС) централизованных лабораторий, что позволит проводить автоматический поиск пациентов с высокой вероятностью носительства гемоглобинопатий.

Перспективы дальнейшей разработки темы исследования

В качестве перспектив разработки темы можно рассматривать дальнейшую апробацию предложенного алгоритма в рамках скрининга на базе МЦКДЛ, изучение особенностей выявления других вариантов ГП, а также разработку лабораторных подходов для подтверждения диагноза α -талассемии и дальнейшее изучение спектра мутаций не только β -, но и α -глобинового гена.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для опубликования основных результатов диссертационных исследований**

1. Жиленкова Ю.И. Использование эритроцитарных индексов для скрининга бета-талассемии / Ю.И. Жиленкова, М.Н. Зенина, А.В. Козлов, С.С. Бессмельцев, К.И. Пшеничная, Т.М. Ивашикина // Медицинский алфавит. – 2015. – Т. 3 (Современная лаборатория), № 11. – С. 60-63.
2. Жиленкова Ю.И. Использование электрофореза на агарозе в диагностике различных типов гемоглобинопатий / О.Ю. Верлинский, Ю.И. Жиленкова, С.С. Бессмельцев, А.В. Козлов // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2016. – Т. 8, № 1. – С. 22–26.
3. Жиленкова Ю.И. Дифференцированная оценка показателей обмена железа при гипохромных анемиях у детей / К.И. Пшеничная, Ю.И. Жиленкова // Педиатр. – 2016. – Т. 7, № 1. – С. 27-31.

Статьи, тезисы докладов в материалах конференций

4. Жиленкова Ю.И. Методы выделения ДНК / Ю.И. Жиленкова, А.С. Филимоненкова // Актуальные проблемы медицины XXI века: Сборник статей Международной научно-практической конференции. – Уфа: Аэтерна, 2014. – С. 18-20.
5. Жиленкова Ю.И. Лабораторная диагностика гемоглобинопатий / Ю.И. Жиленкова // «Трансляционная медицина: от теории к практике»: Материалы 2-й научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. Часть II. – СПб: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2014. – С. 211-212.
6. Жиленкова Ю.И. Лабораторная диагностика гемоглобинозов / В.А. Зимица, Ю.И. Жиленкова // Теоретические и практические вопросы науки XXI века: Сб. статей Международной научно-практической конференции. – Уфа: Аэтерна, 2014. – С. 160-162.
7. Жиленкова Ю.И. Распространённость гемоглобинопатий среди населения детского возраста г. Санкт-Петербурга / Ю.И. Жиленкова, К.И. Пшеничная, Т.М. Ивашикина // Медицинский алфавит. – 2015. – Т. 1 (Современная лаборатория), № 2. – С. 29-31.
8. Жиленкова Ю.И. Использование эритроцитарных индексов для скрининга талассемий / Ю.И. Жиленкова, М.Н. Зенина // «Трансляционная медицина: от теории к практике»: Материалы 3-й научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. Часть II. – СПб: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2015. – С. 276-277.
9. Жиленкова Ю.И. Подходы к дифференциальной диагностике микроцитарных гипохромных анемий / Ю.И. Жиленкова, О.Ю. Верлинский, С.С.

Бессмельцев, Т.М. Ивашикина, А.В. Козлов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60, № 9. – С. 109.

10. Жиленкова Ю.И. Изучение спектра мутаций бета-глобинового гена в Северо-Западном регионе России / С.С. Бессмельцев, А.В. Козлов, Ю.И. Жиленкова, Т.М. Ивашикина // Гематология и трансфузиология. – 2016. – Т. 61, № 1 (Приложение 1). – С. 33.

11. Жиленкова Ю.И. Определение спектра мутаций бета-глобинового гена в Санкт-Петербурге / О.Ю. Верлинский, Ю.И. Жиленкова // «Трансляционная медицина: от теории к практике»: Материалы 4-й научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. – СПб: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2016. – С. 36-37.

12. Жиленкова Ю.И. Обмен железа у пациентов с микроцитарными гипохромными анемиями / Ю.И. Жиленкова, Д.Ю. Цигикал, М.А. Червякова // Мечниковские чтения – 2016, 89-я конференция студенческого научного общества: сборник материалов – Ч. 1. – СПб: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2016. – С. 128-129.

13. Zhilenkova Y. The study of the spectrum of thalassemic mutations at the north-west region of Russia / Y. Zhilenkova, S. Bessmeltsev, A. Kozlov // Haematologica. – 2016. – Vol. 101(s1). – P. 825.

14. Жиленкова Ю.И. Структура и распространенность гемоглобинопатий в Санкт-Петербурге / Ю.И. Жиленкова, О.Ю. Верлинский, С.С. Бессмельцев, А.В. Козлов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т. 61, №9. – С. 530-531.

Список сокращений

- ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
- Г-6-ФД – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
- ГП – гемоглобинопатия
- ЖДА – железодефицитная анемия
- ИЭФ – изоэлектрофокусирование
- КЭФ – капиллярный электрофорез
- ОЖСС – общая железосвязывающая способность сыворотки
- РТР – растворимые рецепторы трансферрина
- СКА – серповидноклеточная анемия
- СЖ – сывороточное железо
- СРБ – С-реактивный белок
- СФ – сывороточный ферритин
- ЭФ – электрофорез
- RBC – количество эритроцитов
- HCT – гематокрит
- MCV – средний объем эритроцитов
- MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроцитах
- MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах
- RDW – ширина распределения эритроцитов по объему
- Rt – ретикулоциты